TD
196
.C5
B78

Dow Chemical Inc.
Service Canadien de la Faune

Étude de l'effet du chlorpyrifos sur les niveaux d'acétylcholinestérase et la mortalité chez le Merle d'Amérique *(Turdus migratorius)* en captivité

Rapport final

Richard Brunet, B. Sc.
André Cyr, Ph. D.

ENVIRONNEMENT CANADA
BIBLIOTHÈQUE
RÉGION DE QUÉBEC

G.R.E.B.E. inc.
1134, rue Sainte-Catherine Ouest, Montréal, Québec H3B 1H4
(514) 871-9221 Télécopieur: (514) 397-9750

Mars 1990 1059-110

ÉQUIPE DE RÉALISATION

Direction:		
	G.R.E.B.E.	M. Robert Décarie
	S.C.F.	M. Jean-Luc Desgranges
	Dow Chemical Inc.	M. R. J. Hood
Rédaction:		Richard Brunet André Cyr
Analyses statistiques		Richard Brunet André Cyr
Terrain		Richard Brunet Maryse Piché

REMERCIEMENTS

Nous aimerions remercier le Dr. Sean Kennedy qui a dirigé les travaux biochimiques au Centre national de la Recherche Faunique du Service Canadien de la Faune, avec l'aide de Anne Griffith, ainsi que Mlle Nicole Bertrand du laboratoire Xenos de l'Université d'Ottawa qui a effectué les analyses des niveaux de chlorpyrifos dans l'herbe. Mme Janine Prud'Homme a fourni gracieusement les espaces d'une grange à North Hatley pour y garder en captivité les Merles d'Amérique avant l'expérimentation. Nous remercions finalement la direction de l'Université de Sherbrooke qui nous a permis d'utiliser les pelouses et les laboratoires de l'Université pour la réalisaiton de cette étude.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....1

Introduction.....2

Méthode.....3

Résultats.....7

Discussion.....9

Recommandations.....11

Références.....14

Tableaux et figures

RÉSUMÉ

La présente étude avait pour but de mesurer l'impact du chlorpyrifos sur le Merle d'Amérique maintenu en enclos. L'impact a été mesuré par le degré d'inhibition de l'activité de l'AChE dans le sang et le cerveau, ceci en relation avec la durée d'exposition et la dose employée. Les expériences consistaient à placer 9 à 12 merles dans une volière, à arroser d'une dose préétablie de chlorpyrifos une surface de pelouse, à prélever le sang ou le cerveau pour mesurer les effets du traitement sur le degré d'inhibition de l'AChE.

Sous les conditions expérimentales, la mortalité a été élevée, celle-ci ayant été enregistrée entre 20 à 24 heures après le début de l'exposition au traitement pour le premier groupe, et entre 3 à 5 heures pour le deuxième groupe. Les deux premiers groupes expérimentaux ont présenté respectivement une inhibition de 33,71 et 28,05% de l'activité cervicale de l'AChE, par rapport à ceux du groupe groupe témoin dont l'activité de l'enzyme a été de 27,50 U/g. Les résultats suggèrent que plus les individus sont gros, plus les symptômes se manifestent rapidement et que le taux d'inhibition de l'AChE est plus important chez eux.

L'impact du chlorpyrifos sur le Merle d'Amérique est plus considérable que prévu même à une dose dite normale. Des températures extrêmes semblent avoir des effets sur la vitesse d'intoxication des merles en captivité. La dominance et donc le taux d'activité des merles en grands groupes dans une volière semble aussi avoir un impact sur la réponse individuelle au traitement. Les recommandations ont trait à la nécessité de nouvelles expérimentations concernant l'effet du comportement individuel sur la vitesse d'intoxication, la capacité du merle à choisir entre des sites contaminés ou non, l'effet de la température sur le degré d'intoxication et l'effet de l'intoxication sur le taux d'activité de l'animal et la durée de récupération suite au traitement.

INTRODUCTION

Le chlorpyrifos [Diéthyl trichloropyridyle phosphorothioate] O, O-diéthyle O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyle ester) est aussi couramment appelé Dursban ou Lorsban. Cet organophosphate a fait son entrée sur le marché en 1965 comme insecticide à usage général et est maintenant utilisé de façons commerciale et domestique pour combattre de nombreux insectes dont la fourmi (*Formicidae*), la punaise des céréales (*Blissus leucopterus*) le ver-gris (*Noctuidae*), la pyrale des prés (*Crambinae*), le charançon des pelouses (*Hyperodes sp.*), le hanneton (*Phyllophaga sp.* et *Amphimallon majalis*), le scarabée japonais (*Popillia japonica*), le perce-oreille (*Forficula auricularia*), etc. (Dow Chemical Canada, non daté).

Ce pesticide est massivement utilisé aux États-Unis. Par exemple, en 1984, environ 0.15 million de kg de chlorpyrifos étaient appliqués sur 600,000 hectares de terres humides pour le contrôle des moustiques (Odenkirchen 1987). Des études ont démontré que les doses utilisées lors de ces applications n'affectaient pas les espèces non-visées, telles les animaux et les oiseaux aquatiques, de même que les animaux terrestres habitant les écosystèmes voisins (Linn 1968; Nelson et Evans 1973; Tagatz *et al.* 1982; Goodman *et al.* 1985; Smith 1987). Cependant, des oies domestiques (*Anser sp.*) intoxiquées ont été retrouvées sur des terrains de golf et des applications cutanées sur des canetons du Canard colvert (*Anas platyrhynchos*) ont provoqué une mortalité importante (Smith 1987). De plus, le chlorpyrifos employé dans les fermes pour contrôler des insectes propagateurs de champignons et bactéries eux-mêmes vecteurs de maladies contagieuses a été associé à des problèmes de reproduction chez le bétail (Everett 1982).

Comme tous les pesticides organophosphorés, le chlorpyrifos agit sur le métabolisme en réduisant l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (United States Environmental Protection Agency 1982; Nolan *et al.* 1984), ce qui provoque une accumulation d'acétylcholine dans les tissus nerveux (Friedman *et al.* 1987). Une inhibition de 50% de l'activité de l'AChE est généralement mortelle pour les oiseaux (Ludke *et al.* 1975).

À cause des caractéristiques structurales des milieux urbains et parce qu'ils sont récents, la faune qui s'y est adaptée est plutôt limitée. Le Merle d'Amérique (*Turdus migratorius*) est une espèce d'oiseaux qui fréquente régulièrement les pelouses à la recherche de vers de terre (*Lumbricus terrestris*, etc) (Bent 1964). De par son comportement, il représente une espèce de choix pour des études sur les effets de la toxicité des pesticides en milieu urbain. Par ses nombreux déplacements au sol et ses habitudes alimentaires, il est fortement sujet à l'absorption cutanée et/ou orale du chlorpyrifos.

La présente étude ne représente qu'un volet d'une étude plus complexe qui vise à étudier l'effet de l'utilisation sur les pelouses du chlorpyrifos sur le Merle d'Amérique. Nous nous proposons ici de vérifier l'impact du chlorpyrifos sur le merle maintenu en enclos. Le premier volet consiste à vérifier si une intoxication peut résulter d'un contact avec l'herbe ayant été arrosée avec le produit et le second à mesurer le degré d'inhibition de l'activité de l'AChE dans le sang et le cerveau. Nous devrions ainsi obtenir des informations plus précises sur les relations entre la durée d'exposition moyenne et le degré d'inhibition de l'activité de l'AChe, ainsi que sur la toxicité du produit, selon les conditions d'exposition.

MÉTHODE

Des Merles d'Amérique adultes ont été capturés au printemps entre le 1er mai et le 29 juin dans des champs à l'aide de filets japonais et gardés dans une grange aménagée en volières à North Hatley, Stanstead, Québec. Ils ont reçus des fruits, des vers de terre et de l'eau *ad libitum* .

Les expériences ont été conduites sur de grandes pelouses sur les terrains de l'Université de Sherbrooke, entre le 8 et le 29 juin 1989. Deux volières de 5 m X 5 m X 1,22 m (figures 1 et 2) ont été construites de modules indépendants de dimension 2,5m X 1,22m à charpente en bois. Le plafond et 5 des 8 panneaux étaient recouverts de feuilles de plastique (0.01mm). Les trois derniers panneaux étaient recouverts d'un grillage de plastique et étaient équipés d'auvents en feuilles de plastique afin de permettre l'aération.

Les expériences consistaient à placer 9 à 12 merles dans une volière, à arroser d'une dose préétablie de chlorpyrifos (45 ml/cm^2, soit 10,8 g de pesticide par 100m^2 en dose standard) une surface de pelouse de même grandeur que la base de la volière et à déplacer la volière contenant les oiseaux sur le site traité, une heure après l'application du chlorpyrifos afin de lui laisser le temps de sécher sur l'herbe. Les oiseaux recevaient, pendant la durée des traitements, des tranches de pommes et d'oranges tous les matins et l'eau offerte était renouvelée au besoin. Le poids des oiseaux était mesuré à l'aide d'une balance pesola de 100g avant les prises de sang. Dès que les oiseaux étaient retirés des volières, selon les conditions expérimentales ci-dessous, le sang était prélevé par ponction de l'artère brachiale à l'aide de quatre capillaires héparinés de 50ml par oiseau. Les capillaires étaient immédiatement congelés après le prélèvement.

Afin de déterminer le degré de toxicité du produit, des arrosages à différentes doses (dose standard et dose cinq fois plus élevée) et différentes durées entre les arrosages (arrosage à tous les jours et tous les deux jours) étaient prévus. La forte mortalité observée, suite à l'application d'une dose normale, a obligé une modification du protocole expérimental. Des oiseaux ont été soumis à l'une des quatre conditions expérimentales suivantes.

Le Groupe Témoin

Après avoir subit une prise de sang, 12 oiseaux étaient enfermés dans une volière 5 jours avant le jour zéro, soit le jour où nous avons aspergé l'herbe avec de l'eau pour simuler les traitements avec application de chlorpyrifos. Après 7 jours d'observation, tous les oiseaux étaient soumis à une deuxième prise de sang et 3 d'entre-eux étaient sacrifiés et leur cerveau congelé pour analyse ultérieure.

Expérience 1 : Estimation de la Dose Létale 1

Cette première expérience avait pour but de déterminer l'effet prolongé d'une dose standard

de chlorpyrifos appliquée tous les jours, sur les niveaux d'AChE dans le sang et le cerveau du Merle d'Amérique. Neuf oiseaux ont subit une prise de sang 5 jours avant le jours zéro. Le sang et le cerveau de trois oiseaux devaient être prélevé 24, 72 et 120 hrs après le traitement. Au cours des deux premiers essais, des vents violents (23,7 noeuds) puis des pluies diluviennes nous ont forcé à recommencer l'expérience. Ces incidents sont tous survenus entre la 20ième et la 24ième heure après le début de l'exposition au chlorpyrifos. Lors du premier essai, les températures maximale et minimale étaient de 23,3° et 10,4°. Lors du second essai, elles ont été de 19,4° et 10,3°. À la dernière tentative, le temps était clair et calme et les températures extrêmes ont atteint 20,8° et 1,6°, ce qui est relativement froid comme minimum pour le mois de juin.

Suite à une mortalité préexpérimentale élevée, seulement sept oiseaux ont été placés dans la volière lors du dernier essai, et ce une heure après l'application du chlorpyrifos qui a eue lieu à 20 heures le 14 juin. Tous les oiseaux sont morts après moins de 24 heures. Le cerveau de chacun a été prélevé pour analyse de l'AChE. Suite aux conditions expérimentales ci-dessus et à la forte mortalité, le protocole initial (voir plus haut) a été modifié sans augmentation de la dose ou modification de la durée entre les traitements. Les nouveaux protocoles suivants ont été élaborés.

Expérience 2 : Estimation de la Dose Létale 2

Étant donné la mortalité observée lors la première expérience, la présente expérience a été réalisée. Elle avait pour but de préciser la période à laquelle se manifeste l'effet du produit. Lors de l'expérience Dose létale 2, la température maximale enregistrée était de 28,4°. Treize oiseaux ayant subit une prise de sang 5 jours plus tôt ont été enfermés dans une volière une heure après l'application du chlorpyrifos qui a eue lieu à 13:00 heures le 27 juin. Chaque merle était prélevé dès que se manifestaient les premiers signes comportementaux d'intoxication, tels que résumés par Hudson *et al.* (1984), et en particulier l'hypoactivité, la perte de coordination musculaire, les spasmes ou les convulsions pulmonaires. Une prise de sang a été faite dans les minutes qui suivaient et l'animal était aussitôt sacrifié afin d'en conserver le cerveau.

Expérience 3 : La Courbe Standard

Cette expérience avait pour but d'établir un courbe standard présentant les effets progressifs du chlorpyrifos sur les niveaux de l'AChE sanguin et cervical et sur la mortalité en prélevant un merle à toutes les vingt minutes pendant les trois premières heures suivant l'exposition. La volière contenait 12 oiseaux. Le chlorpyrifos a été appliqué à 8:00 hres le matin du 27 juin. Les oiseaux ainsi que la nourriture ont été placés au-dessus de la zone d'application 1 hrs après celle du produit. La nourriture et l'eau étaient placés dans des contenants afin d'éviter la contamination. Un oiseau au hasard a été retiré toutes les 20 minutes. On a effectué une prise de sang et l'oiseau a été sacrifié pour en conserver le cerveau, pour mesure ultérieure de l'AChE.

Présence de chlorpyrifos dans l'herbe

Des analyses pour vérifier la présence de chlorpyrifos dans l'herbe ont été effectuées afin de vérifier que les sites témoins et les sites traités étaient bien exempts du produit à tester avant l'application expérimentale du chlorpyrifos et aussi pour vérifier la teneur en chlorpyrifos après le traitement et l'uniformité des doses appliquées. Ces analyses ont été effectuées le 24 octobre 1989 par Nicole Bertrand du laboratoire Xenos à l'Université d'Ottawa, Ontario. Le chlorpyrifos a été extrait de l'herbe par homogénéisation dans du méthanol. Le prélèvement a été agité pendant 15 minutes, centrifugé et un aliquot fût additionné à un volume égal d'acide phosphorique dilué. Le chlorpyrifos fût alors extrait dans l'hexane. La solution d'hexane a été ensuite analysée par chromatographie en phase gazeuse en utilisant un détecteur à flamme photométrique (Hewlett-Packard 5880). La température de l'injecteur était de 240℃ et celle du détecteur de 225℃. Le débit de l'hélium gazeux porteur était de 25 ml/min. Le temps de rétention du chlorpyrifos était de 2,17 minutes. Le recouvrement du chlorpyrifos était en moyenne de 101%.

Analyses de l'AChE

Les analyses de l'activité de l'AChE cervical ont été effectuées par la Direction des

Inventaires et de la Toxicologie de la Faune, du Service Canadien de la Faune, Environnement Canada (Hull, Québec) selon une méthode basée sur les modifications de Hill et Fleming (1982) de la méthode de Ellman *et al.* (1961). Un test de Wilcoxon-Mann-Withney fût effectué pour comparer les données des divers groupes.

RÉSULTATS

Présence de chlorpyrifos dans l'herbe

Le tableau 1 présente les résultats des analyses d'herbe. Il démontre très bien que l'herbe poussant dans la volière du groupe témoin et les échantillons pris à l'extérieur des volières n'étaient pas contaminés par le chlorpyrifos, et que les traitements étaient uniformes, avec un pourcentage de recouvrement de 101% du produit sur l'herbe.

Analyses de l'AChE

Le groupe témoin

Les résultats des analyses sanguines du groupe témoin pour les mesures de l'activité de l'AChE comportent de trop grandes variations pour révéler quelques tendances sur les effets des traitements (tableau 2). Les cerveaux ont donc été utilisés pour les analyses de l'activité de l'AChE pour toutes les situations expérimentales avec traitement au chlorpyrifos. Comme les mesures de l'activité de l'AChE provenant d'échantillons de sang ne peuvent être comparées à celles provenant de cerveaux, d'autres oiseaux ont donc été capturés afin de fournir un échantillon de cerveaux d'oiseaux non traités (groupe témoin) pour les analyses (tableau 3). Le pourcentage d'intoxication des oiseaux des groupes traités a été calculé par rapport à la moyenne du niveau de l'activité de l'AChE des cerveaux d'oiseaux du groupe témoin.

Expériences 1 et 2 : Estimations des Doses Létales 1 et 2

L'analyse de l'activité cervicale de l'AChE pour les deux groupes d'oiseaux exposés à des doses létales révèle des résultats très semblables. Tous les oiseaux du groupe Dose Létale 1 sont morts entre la 20ième et la 24ième heure après le début de l'exposition au traitement (tableau 4). Pour le groupe Dose Létale 2 (tableau 5), les premiers symptômes d'intoxication apparaissent après 3 à 5 heures d'exposition (figure 3). Ces deux groupes présentent respectivement une inhibition de 33,71 et 28,05% de l'activité cervicale de l'AChE. Cependant, Ludke *et al.* (1975) ont évalué en laboratoire qu'un chute de 20 % de AChE était déjà indicative d'une intoxication suite à l'exposition au produit. Or, les données du groupe témoin présentent en moyenne une activité de l'enzyme de 27,50 U/g (Unités par gramme de cerveau); donc une inhibition de AChE de 20% signifie que toutes les données supérieures à 22,00 U/g peuvent représenter des cas d'oiseaux où l'inhibition ne s'est pas produite. Ceci pourrait être dû au comportement de dominance (voir discussion). Si nous recalculons les moyennes d'activité de l'enzyme pour chaque groupe en omettant les valeurs supérieures à ce seuil dans les analyses (oiseaux #435F, 446 et 448F des tableaux 4 et 5), les oiseaux du groupe Dose Létale 1 ont subit en moyenne une inhibition de l'AChE de 39,01% et les oiseaux du groupe Dose Létale 2 de 35,06%. Notons qu'une inhibition de 50% est létale pour les oiseaux (Hill et Fleming 1982).

La figure 4 illustre l'activité de l'AChE en fonction de la durée d'exposition nécessaire pour l'apparition des premiers symptômes d'intoxication au chlorpyrifos, chez le groupe Dose Létale 1. La relation entre ces deux facteurs est très faible (R^2 = 0,14). D'autres facteurs que la durée d'exposition sont probablement impliqués dans l'apparition des symptômes d'intoxication.

La figure 5 suggère une relation importante entre la durée d'exposition nécessaire pour observer l'apparition des premiers symptômes et le poids de ces mêmes oiseaux. Plus les individus sont gros, plus les symptômes se manifestent rapidement (R^2 = 0,38).

La figure 6 indique que ces mêmes individus subissent une plus forte inhibition de l'AChE que leurs congénères moins lourds et présentant les mêmes symptômes d'intoxication ($R^2 = 0,71$). Ceci suggère que plus les individus sont gros, plus l'inhibition de l'AChE est élevée.

Expérience 3 : La Courbe Standard

Les données sur l'activité de l'AChE des cerveaux provenant du groupe de la courbe standard aux 20 minutes n'ont pu être analysées, ce qui limite certaines de nos interprétations. Mentionnons qu'aucun des oiseaux n'a présenté de symptômes d'intoxication avant d'être retiré de la volière, soit dans les trois heures qui ont suivi l'application du chlorpyrifos.

DISCUSSION

Plusieurs chercheurs ont démontré qu'il existe une relation entre le poids de l'individu et son rang social. L'individu dominant a un poids supérieur à ses subordonnés (Rowell 1974; Harper 1982; Lundberg 1985; Jackson 1988), de même qu'une activité journalière plus intense (Rivault 1981; Brunet 1990). Ainsi, bien qu'aucune donnée comportementale n'aie été recueillie au sujet du rang social, nous pouvons tout de même tenter d'expliquer les résultats de cette façon. Les individus dominants étant plus actifs que les subordonnés, ils étaient vraisemblablement exposés plus fréquemment et donc à une plus grande quantité de chlorpyrifos par unité de temps que les subordonnés. Ainsi, comme le suggère la figure 6, plus le poids de l'oiseau est élevé, plus son rang hiérarchique est important, plus il est actif par rapport aux autres oiseaux se trouvant dans la volière et plus les symptômes d'intoxication apparaissent rapidement. Puisque les oiseaux dominants absorbent davantage de chlorpyrifos par unité de temps que les oiseaux subordonnés, l'activité de l'acétylcholinestérase est plus fortement affectée chez ces oiseaux. Par conséquent, la hiérarchie sociale associe la morphologie des oiseaux à un rang qui détermine le taux d'activité de chaque individu et, par le fait même, influence directement la quantité de pesticide absorbée par unité de temps. La durée d'exposition nécessaire pour l'apparition des premiers symptômes se

trouve alors fortement influencée par le comportement individuel.

Comme mentionné, des conditions climatiques extrêmes nous ont forcé à recommencer plus d'une fois l'expérience Dose Létale 1. De nombreuses pertes en oiseaux ont empêché de recueillir les données de base. Cependant, des observations comportementales nous suggèrent que les oiseaux sont plus fortement affectés par le produit à des températures extrêmes. Lors des deux premiers essais, et sous des conditions climatiques différentes, tous les oiseaux s'étaient échappés entre la 20ième et la 24ième heure après le début de l'exposition, sauf 1 qui était mort, dans chaque groupe. À la dernière tentative, et malgré le temps clair et calme, tous les oiseaux étaient morts en moins de 24 heures. La température minimale avait été alors plutôt froide (1,6℃) pour le mois de juin.

Lors de l'expérience Dose Létale 2, il a fait relativement chaud, soit un maximum de 28,4 ℃. Bien que le produit se dégrade plus rapidement avec une augmentation de la température, de l'exposition solaire, du pH, ou de l'humidité relative (Brust, 1966; Mortland et Raman, 1967, Smith, 1968, Miles *et al.* 1983), sa toxicité augmente aussi avec la température (Johnson et Finley 1980). De plus, il serait absorbé plus rapidement à cause des vapeurs qu'il dégagerait. La chute de l'activité de l'AChE est aussi plus marquée à des températures trop basses (Maguire et Williams 1987), ce qui pourrait expliquer la forte mortalité observée lors de la troisième tentative pour le groupe Dose Létale 1. Par conséquent, ces faits nous incitent à recommander de porter une attention toute spéciale à la température puisqu'il semble exister une relation entre les températures extrêmes et la toxicité du produit.

Bien qu'il semble difficile à première vue de tirer des conclusions claires de ces travaux, la mobilité des individus semble être un facteur important lors de l'évaluation de l'impact du pesticide sur une espèce. Notons ici que les oiseaux n'avaient pas d'autres choix que de marcher sur la pelouse, qu'elle soit contaminée ou non, alors qu'en milieu urbain, l'animal peut toujours aller ailleurs que sur les sites contaminés, en supposant qu'il soit capable de détecter le pesticide et donc de réagir à sa présence. Il serait donc fortement souhaitable de poursuivre des expériences en

captivité pour vérifier si l'oiseau manifeste une préférence pour les sites non contaminés, en éliminant les facteurs sociaux, et en calibrant le degré de mobilité des individus mis en contact avec le produit.

D'autre part, nous avons soulevé l'effet de la température sur l'absorption du produit. Il nous semble aussi important de poursuivre des recherches en ce sens, pour déterminer des intervalles de température à l'intérieur desquelles le produit serait moins toxique pour les espèces non visées. Ceci pourrait devoir modifier les conditions propices aux applications standards, si l'on devait éviter les jours où les températures sont soit trop chaudes, ou trop froides.

Finalement, à cause des différents points laissés en suspens, nous ne pouvons conclure à la toxicité du chlorpyrifos pour les Merles d'Amérique. Disons plutôt que le chlorpyrifos est toxique d'un point de vue expérimental et physiologique, et qu'il présente un risque au point de vue écologique pour cette espèce. Il serait donc nécessaire de poursuivre certaines expériences semblables à celle-ci en milieu contrôlé, afin de clarifier certaines questions qui ne pourraient être répondues e.. milieu naturel, dû au trop grand nombre de paramètres à mesurer et à contrôler.

RECOMMANDATIONS

L'impact du chlorpyrifos sur le Merle d'Amérique est plus considérable que prévu même à une dose dite normale. Des températures extrêmes semblent avoir des effets sur la vitesse d'intoxication des merles en captivité. La dominance et donc le taux d'activité des merles en grands groupes dans une volière semble aussi avoir un impact sur la réponse individuelle au traitement. Compte tenu de tout ceci, il faudrait procéder à une série approfondie de nouvelles expérimentations concernant quatre aspects bien précis:

-l'effet du comportement individuel sur la vitesse d'intoxication,

-la capacité du merle à choisir entre des sites contaminés ou non,

-l'effet de la température sur le degré d'intoxication,

-l'effet de l'intoxication sur le taux d'activité de l'animal et la durée de récupération suite au traitement.

Le comportement individuel et la vitesse d'intoxication

Aucune donnée comportementale n'a été recueillie concernant le rang social des individus exposés en groupe au produit. Il serait donc important de réaliser une étude détaillée des individus et de leur comportement réactionnel et d'intoxication lorsqu'ils sont exposés au chlorpyrifos un à la fois, étant donné que les merles sont plus souvent territoriaux que grégaires pendant la période d'application du chlorpyrifos. Ceci pourrait se faire par l'exposition individuelle des oiseaux aux mêmes conditions expérimentales que ci-dessus pour mesurer la vitesse et le degré d'intoxication en fonction du taux individuel d'activité et d'exposition réelle au produit sur l'herbe. Un oiseau plus actif devrait être intoxiqué plus rapidement qu'un moins actif, et un oiseau dominant devrait l'être plus qu'un oiseau forcé à exprimer moins d'activités sous le stress d'un dominant. On pourrait ainsi mesurer l'effet de l'intoxication sur le comportement.

Capacité de choix entre les sites

Les oiseaux, sous les conditions expérimentales de la présente expérience n'avaient pas le choix entre une pelouse traitée et non traitée, choix qu'ils sont susceptibles d'exercer en milieu urbain. Il faudrait procéder à une étude pour savoir si le merle manifeste une préférence pour les sites non contaminés versus ceux contaminés, et donc s'il peut discerner les endroits traités pendant la période où le produit est le plus toxique, suite à un arrosage.

La température et le degré d'intoxication

La chute de l'activité de l'AChE est plus marquée à des températures basses qu'à des températures élevées (Maguire et Williams 1987). Suite à ces résultats et à ceux préliminaires de la présente étude, une autre étude importante qui devrait être réalisée a trait à l'effet du chlorpyrifos

sous différentes températures. Ceci permettrait de déterminer les intervalles de températures qui présentent des risques plus importants de forte intoxication et de mortalité lorsqu'il fait trop chaud ou trop froid suite à un arrosage en nature. Une telle étude pourrait être conduite dans des chambres à température contrôlée dans lesquelles on mesurerait les taux d'activité des oiseaux sous traitement.

Le taux d'activité et la durée de récupération

Un dernier sujet de recherche permettrait de détecter l'impact d'un traitement sur le taux d'activité des oiseaux et de mesurer la durée de récupération jusqu'au taux initial d'activité endogène en conditions contrôlées, suite au traitement. Cette étude porterait donc sur l'étude des rythmes circadiens des merles sous traitement. Nous avons en effet procédé à une étude[1] analogue sur les rythmes circadiens en utilisant un pesticide, le diméthoate. Les résultats de cette dernière étude démontrent que le diméthoate affecte le taux d'activité et le poids des individus traités, et que les oiseaux ont besoin de plus de dix jours de récupération avant de retrouver leur taux normal d'activité circadienne endogène. Ces résultats suggèrent que de tels animaux seraient assez perturbés en nature suite à un tel traitement. Une étude comparable avec le Merle d'Amérique permettrait de cerner davantage l'impact réel du chlorpyrifos sur l'animal à moyen terme, surtout pour démontrer l'impact comportemental qui affecte directement la survie de l'animal.

[1] Brunet, R. & A. Cyr. The impact of dimethoate on circadian rhythms and the behavior of three granivorous species: Endogenous rhythms as a tool to detect pesticide effects (non publié, ne pas citer).

RÉFÉRENCES

Bent, A.C. 1964. Life histories of North American thrushes, kinglets, and their allies. Dover, N.Y. 452 pp.

Brunet, R. 1990. Relations entre les différents facteurs des rythmes circadiens endogènes et la hiérarchie sociale chez le Carouge à épaulettes (*Agelaius phoeniceus*). Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke (en rédaction).

Brust, H.F. 1966. A summary of chemical and physical properties of Dursban. Down to Earth 22: 21-22.

Dow Chemical Canada. (non daté). Dursban * 2E. Loi sur les produits antiparasitaires. Enregistrement No.10636. Dow Chemical Canada inc., C.P. 1012, Sarnia (Ontario) N7T 7K7.

Ellman, G.L., K.D. Courtney, V. Andres jr. et R.M. Featherstone. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7: 99-95.

Everett, R.W. 1982. Effects of Dursban 44 on semen output of Holstein bulls. Dairy Sci. 65: 1781-1791.

Friedman, J., M. Dison, V. Hanji et M.N. Egyed. 1987. Mass intoxication in pellets caused by an organophosphorous insecticide. ISR J. Vet. Med. 43: 215-216.

Goodman, L.R., D.J. Hansen, D.P. Middaugh, G.M. Cripe et J.C. Moore. 1985. Method for early life-stage toxicity tests using three atherinid fishes and results with chlorpyrifos. Pages 145-154 *In* : R.D. Cardwell, R.Purdy & R.C. Bahner (eds.). Aquatic toxicology and hazards assessment:seventh symposium. ASTM Spec. Tech. Publ. 854, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

Harper, D. G. C. 1982 Competitive foraging in mallards: 'ideal free' ducks. Anim. Behav. 30: 575-584.

Hill, E.F. et W.J. Fleming.1982. Anticholinesterase poisoning of birds: Field monitoring and diagnosis of acute poisoning. Environ. Toxicol. Chem. 1: 27-38.

Hudson, R.H., R.K. Tucker et M.A. Haegle. 1984. Handbook of toxicity of pesticides to wildlife. U.S. Fish Wildl. Serv. Resour. Publ. 153, 90 pp.

Jackson W. M. 1988. Can individual differences in history dominance explain the development of linear dominance hierarchies? Ethology 79: 71-77.

Johnson, W.W. et M.T. Finley. 1980. Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic

invertebrates. U.S. Fish Wildl. Serv. Resour. Publ. 137. 98 pp.

Linn, J.D. 1968. Effects of low volume spraying of Dursban and Fenthion on fish. Down to Earth 24: 28-30.

Ludke, J.L., E.F. Hill et M.P. Dieter. 1975. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. Arch. Environ. Contamin. Toxicol. 3 :1-21.

Lundberg, P. 1985. Dominance behaviour, body weight and fat variations, and partial migration in European blackbirds (*Turdus merula*). Behav. Ecol. Sociobiol. 17: 185-189.

Maguire, C.C. et B.A. Williams. 1987. Cold stress and acute organophosphorus exposure: interaction effects on juvenile Northern Bobwhite. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16: 477-481.

Miles, J.R.W., C.R. Harris et C.M. Tu. 1983. Influence of temperature on the persistence of chlorpyrifos and chlorfenvinphos in sterile and natural mineral and organic soils. J. Envion. Sci. Health B18: 705-712.

Mortland, M.M. et K.U. Raman. 1967. Catalytic hydrolysis of some organic phosphate pesticides by copper (II). Agric. Food Chem. 15: 163-167.

Nelson, J.H. et E.S. Evans Jr. 1973. Field evaluation of the larvicidal effectiveness. Effects on non-target species and environmental residues of a slow-release polymer formulation of chlorpyrifos. U.S. Army Environ. Hygiene Agency Rep. No. 44-022-73/75. Aberdeen Proving Ground Maryland. 15 pp.

Nolan, R.J., D.L. Rick, N.L. Freshour et J.H. Saunders. 1984. Chlorpyrifos: Pharmacokinetics in human volunteers. Toxicol. Appl. Pharmacol. 73: 8-15.

Odenkirchen, E.W. 1987. Hazards of chlorpyrifos, an organophosphorus pesticide, to natural resources: a review. M.A. Thesis. The American University, Washington, D.C. 63 pp.

Rivault, C. 1981. Rôle des facteurs sociaux sur l'expression de la rythmicité circadienne dans un groupe chez *Periplaneta americana* (Dictyopt.). Behavior 77: 23-43.

Rowell, T. E. 1974. The concept of social dominance. Behav. Biol. 11: 131-154.

Smith, G.J. 1987. Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: organophosphorus and carbamate compounds. U.S. Fish Wildl. Serv. Resour. Publ. #170, 171 pp.

Smith, G.N. 1968. Ultraviolet light decomposition studies with Dursban and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. J. Econ. Entomol. 61: 793-799.

Tagatz, M.E., N.R. Gregory et G.R. Plaia. 1982. Effects of chlorpyrifos on field and laboratory developed estuarine benthic communities. J. Toxicol. Environ. Health 10: 411-421.

United States Environmental Protection Agency. 1982. Recognition and management of pesticide poisoning. 3rd Edition EPA 540/9-80-005.

Tableau 1. Concentration (ppm)* de chlorpyrifos dans les échantillons d'herbe.

GROUPE	CONDITION	
	Extérieure	Intérieure
Témoin	0.019-0.016	0.024
Courbe standard	1.78	158
Dose Létale 1	0.383-0.465	137
Dose Létale 2	0.204 0.061-0.065	127 158

* Les résultats globaux démontrent un % de recouvrement de 101% de l'herbe traitée.

Tableau 2. Niveau de l'AChE du sang et poids de Merles d'Amérique du groupe témoin et dates de relevés selon le protocole original prévu (M=mâles, F=Femelles).

	DATES DE RELEVÉS						TRAITEMENT		ANALYSE SANGUINE	
	SANG					CERVEAU				
date:	8	9	11	13	14	14	DURÉE	POIDS DES INDIVIDUS	moyenne	écart
No.	juin	juin	juin	juin	juin	juin	hrs	g	U/L	type
408 M	X	X					24	82	2467	31
407 M	X	X					24	82	292	36
406 M	X		X				72	84	1563	50
405 F	X		X				72	86	622	3
404 F	X			X			120	81	194	19
403 F	X			X			120	80	2939	38
402 F	X				X		144	80	1647	24
401 F	X				X		144	79	1371	
417 F	X				X		144	88	878	28
414 F	X	X				X	24	82	1965	31
422 F	X		X			X	72	82	288	3
423	X			X		X	120	83	2314	287

Tableau 3. Niveau de l'AChE du cerveau de Merles d'Amérique du groupe témoin.

No.	POIDS (g)	moyenne U/gr	écart type	grammes de cerveau
476	81	25.27	0.97	0.45
477	80	31.04	0.72	0.32
478	82	25.92	0.02	0.43
479	86	24.45	0.1	0.55
x1	-	30.16	-	-
x2	-	28.18	-	-
	moyenne *	27.5033		
	écart type	2.71446		

* La valeur moyenne sert au calcul du % d'inhibition de l'AChE dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4. Niveau de l'AChE du cerveau, poids et durée d'intoxication de Merles d'Amérique du groupe dose létale 1 (M=mâles, F=Femelles).

DATES DE RELEVÉS TRAITEMENT					ANALYSE AChE CERVEAU				% D'INHIBITION
	SANG	CERVEAU		POIDS DES					
Dates:	14-juin	15-juin	DURÉE	INDIVIDUS	moyenne	moyenne*	écart	grammes de	
No.			hrs	g	U/g	U/g	type	cerveau	
433	X	X	20-24	80	19.63	19.63	1.52	0.52	28.6
434 F	X	X	20-24	83					
435 F	X	X	20-24	86	24.06	-	0.11	0.53	12.5
436 M	X	X	20-24	85	20.78	20.78	0.71	0.4	24.4
439 F	X	X	20-24	76	9.84	9.84	0.26	0.44	64.2
440 F	X	X	20-24	89					
441	X	X	20-24	79	16.85	16.85	0.6	0.56	38.7
				moyenne	18.232	16.775 *			33.7
				écart type	5.3560218	4.90887			

* Voir texte pour les moyennes d'AChE calculées sur les valeurs supérieures au seuil de 20% d'intoxication.

Tableau 5. Niveau de l'AChE du cerveau, poids et durée d'intoxication de Merles d'Amérique du groupe dose létale 2 (M=mâles, F=Femelles).

DATES DE RELEVÉS TRAITEMENT						ANALYSE AChE CERVEAU				% D'INHIBITION
	SANG		CERVEAU		POIDS DES					
dates:	19	27	27	DURÉE	INDIVIDUS	moyenne	moyenne *	ecart	grammes de	
No.	juin	juin	juin	hrs	g	U/gr	U/gr	type	cerveau	
442 F	X	X	X	3	84	19.92	19.92	0.62	0.36	27.6
443 F	X		X	4.5	84					
444 M	X	X	X	3.5	87	15.27	15.27	0.44	0.46	44.5
445	X	X	X	3.2	84	17.65	17.65	0.18	0.31	35.8
446	X	X	X	3.9	79	27.8	-	0.2	0.46	-0.01
447 F	X	X	X	4.5	83	20.15	20.15	0.05	0.48	26.7
448 F	X	X	X	4.9	78	23.34	-	0.35	0.44	15.1
449 M	X	X	X	4	86	15.67	15.67	0.09	0.36	43
451 M	X	X	X	3.9	84	18.51	18.51	0.11	0.47	32.7
437	X		X	3.2	78					
			moyenne	3.86	moyenne	19.78875	17.8617 *			28.1
			écart type	0.638	écart type	4.15	2.0716			

* Voir texte pour les moyennes d'AChE calculées sur les valeurs supérieures au seuil de 20% d'intoxication.

Tableau 6. Dates et heures prévues des relevés et poids de Merles d'Amérique du groupe coube standard 20 min. (M=mâles, F=Femelles).

	DATES DE RELEVÉS				ANALYSE
	SANG	CERVEAU			AChE CERVEAU
dates:	27-juin	27-juin	DURÉE	POIDS	moyenne
No.			min	(g)	U/gr
408 M	X	X	40	81	
407 M	X	X	220	78	non
406 M	X	X	20	79	
405 F	X	X	80	86	disponibles
404 F	X	X	120	88	
403 F	X	X	60	82	
402 F	X	X	140	82	
401 F	X	X	200	83	
417 F	X	X	240	80	
418 F		X	160	81	
419 M	X	X	180	83	
420 M		X	100	81	

Fig. 1 Plan des volières.

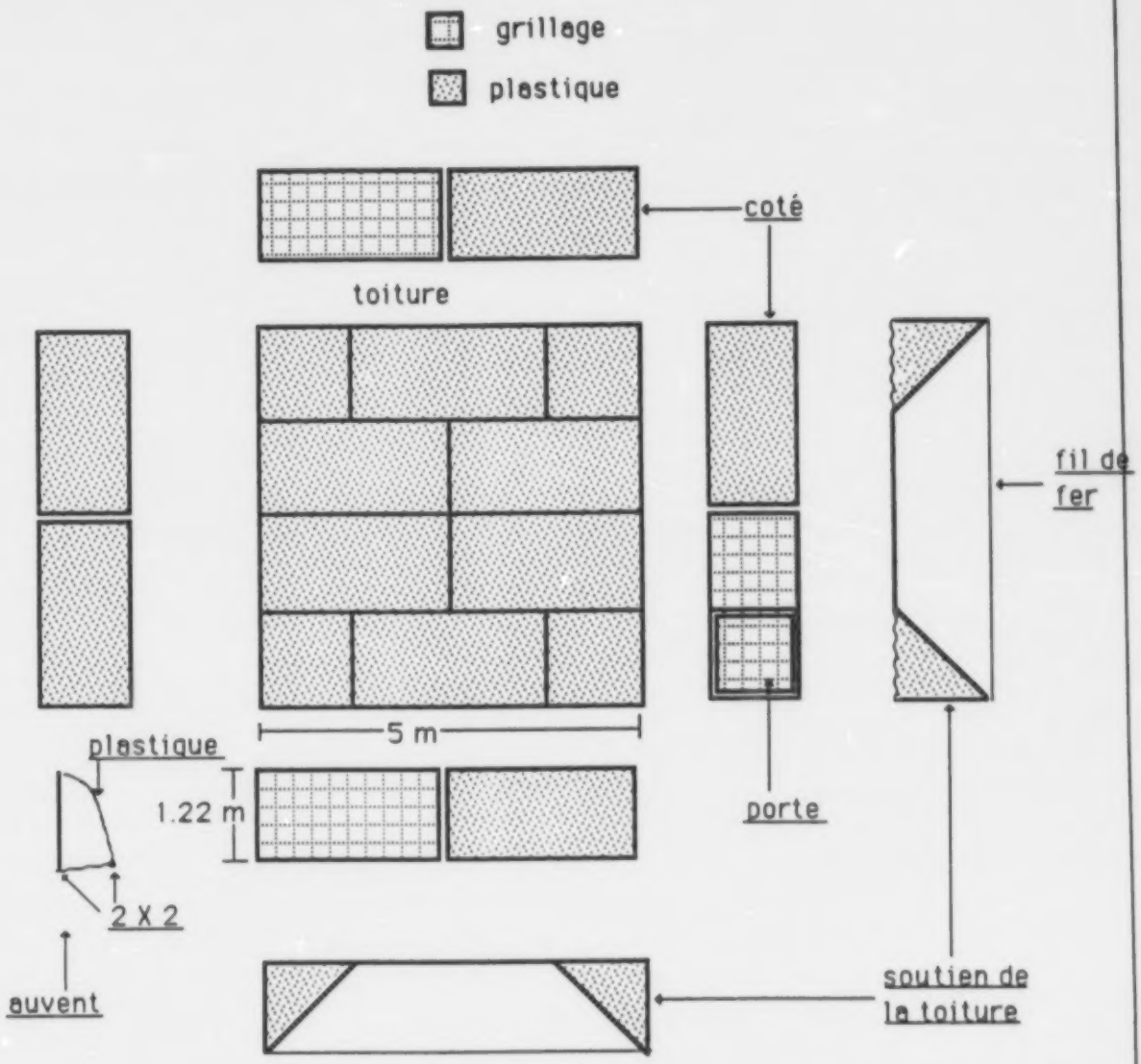

Figure 2. Cages expérimentales.

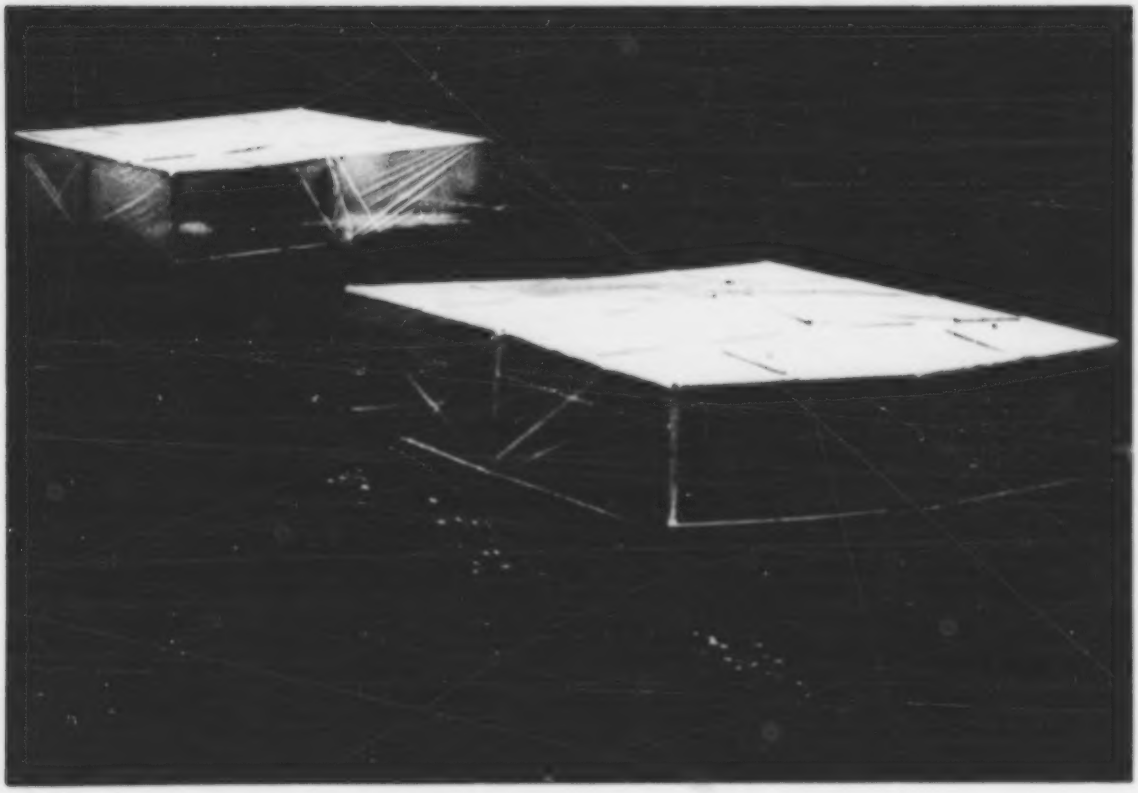

Figure 2. Cages expérimentales.

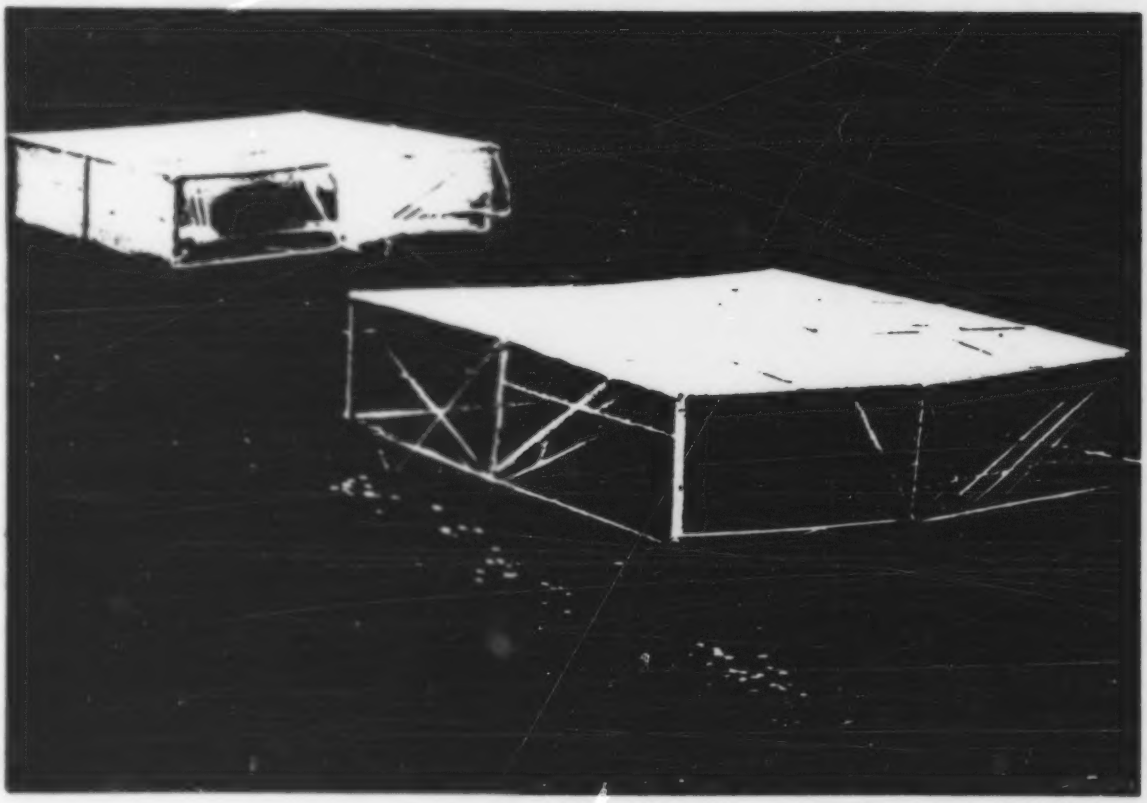

FIG. 3 Vitesse de mortalité des Merles d'Amérique.
(expérience Dose Létale 2)

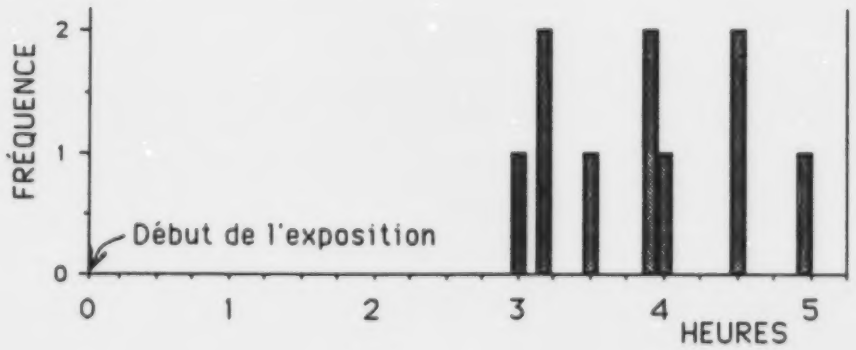

Fig. 4 Relation entre l'activité de l'AChE et la durée d'exposition (dose létale 2).

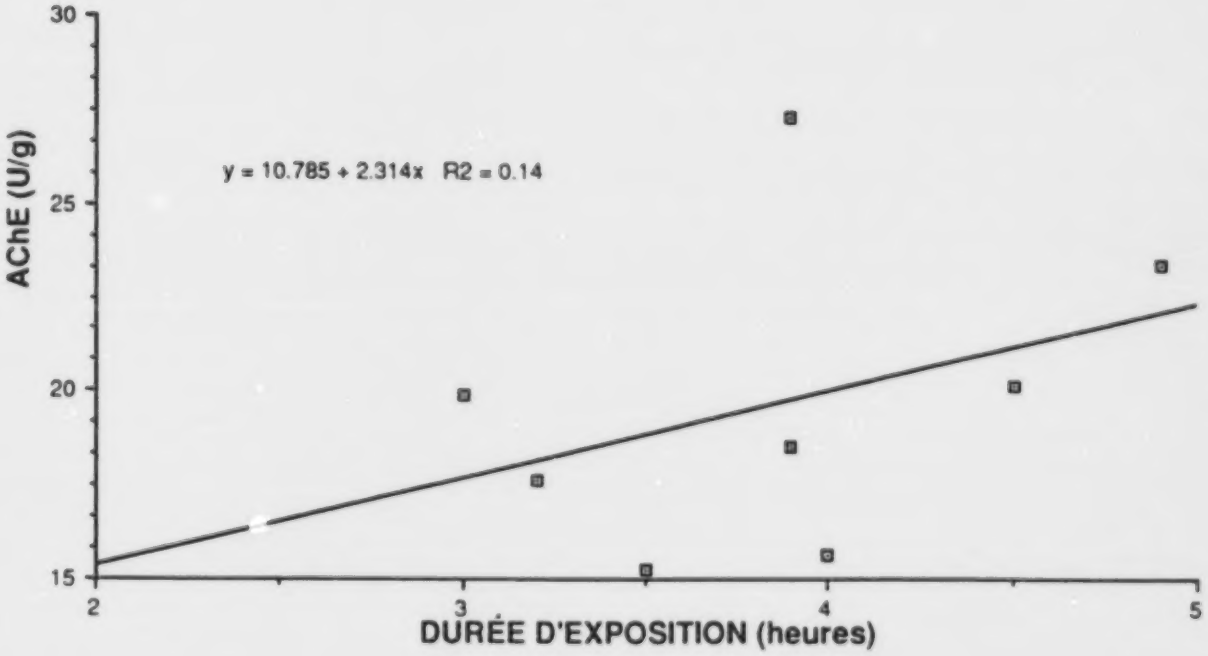

Fig. 5 Relation entre la durée d'exposition et le poids (dose létale 2).

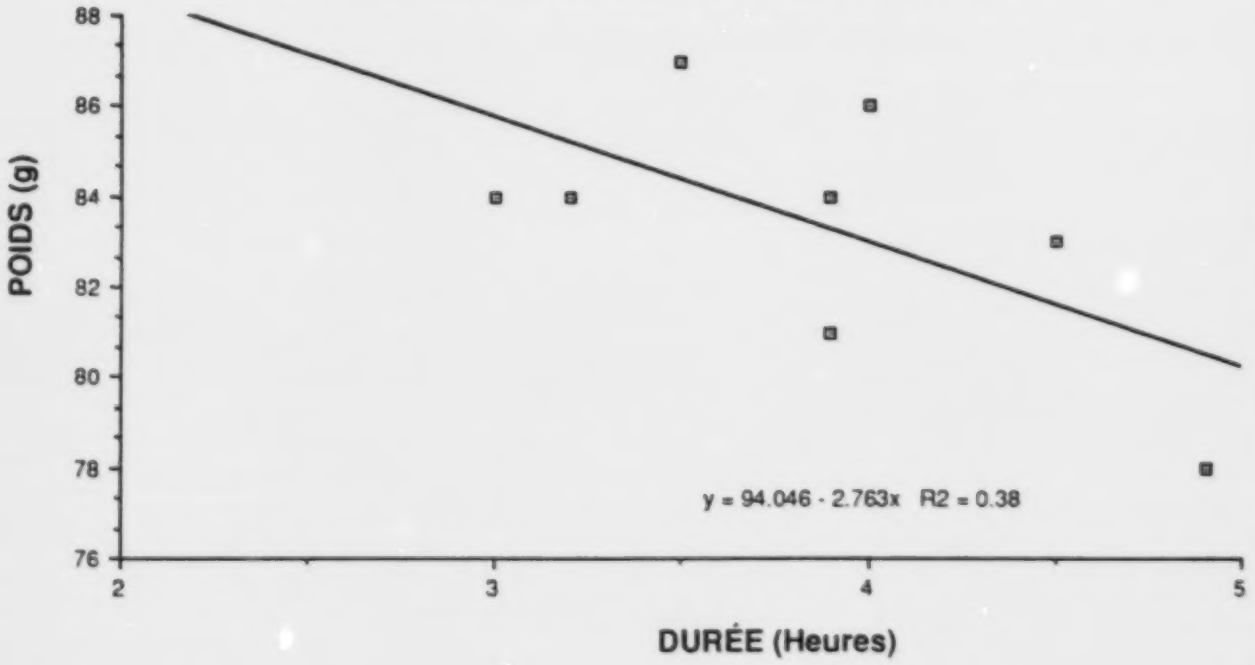
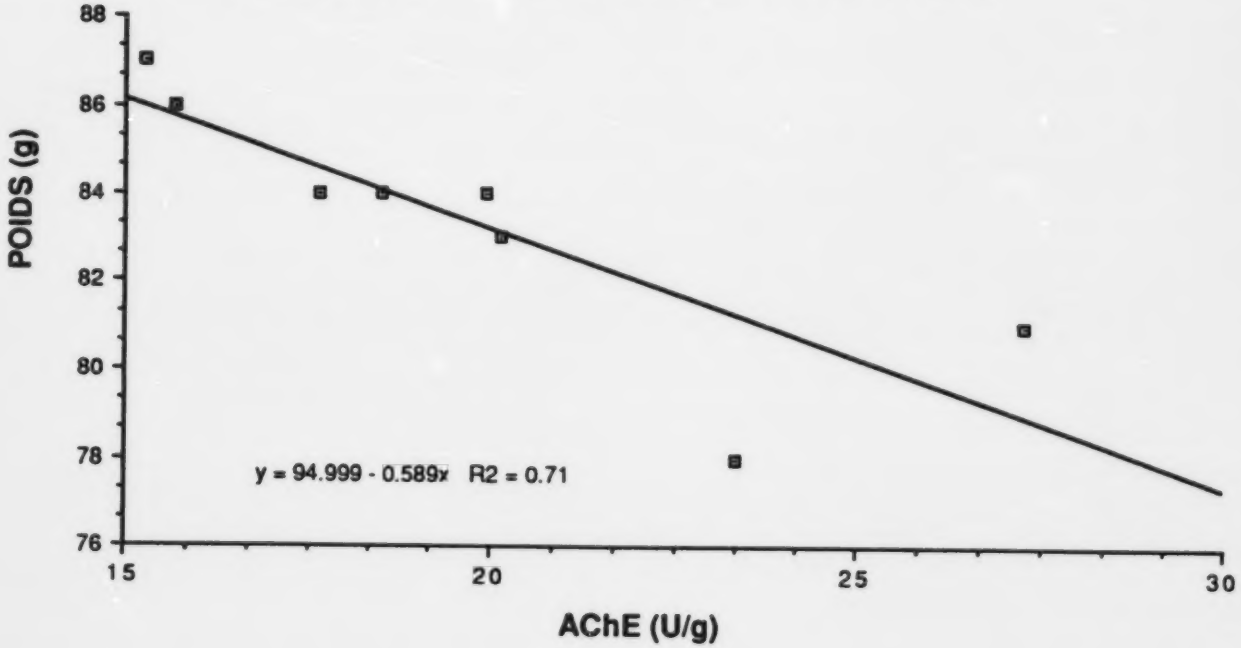
Fig. 6 Relation entre l'activité de l'AChE et le poids (dose létale 2).